

SEMI-MICRODOSAGE DU CALCIUM ET DU MAGNÉSIUM DANS LES ÉCHANTILLONS VÉGÉTAUX

par

J. DUMAS et C. EGOUMENIDES

Institut Français de Recherches Fruitières Outre-Mer (I. F. A. C.)

L'analyse des échantillons végétaux tient une place majeure dans les préoccupations de tous ceux qui étudient la nutrition des végétaux. La nécessité de disposer d'un grand nombre de résultats est difficilement compatible avec l'obligation de n'interpréter que des teneurs calculées avec précision. Le but poursuivi par notre laboratoire est de doser directement cations et anions dans les solutions provenant des échantillons végétaux : jusqu'à ce jour cette ambition semble malaisément réalisable.

I. MÉTHODE PROPOSÉE

Nous avons mis au point il y a deux ans⁽¹⁾ une méthode pouvant être utilisée en microanalyse basée sur la séparation successive des cations alcalino-terreux : le calcium était précipité sous la forme très classique de l'oxalate à pH 5 et le magnésium était ultérieurement entraîné par la 8-hydroxyquinoléine avec les métaux lourds. Cette mé-

thode n'était pas rapide, car elle impliquait des précipitations et un lavage du précipité des oxinates, très exigeants en temps.

Récemment⁽²⁾ en 1958, la méthode de complexométrie de SCHWARZENBACH recevait quelques améliorations qui faisaient espérer une appli-

cation commode : il s'agissait entre autre d'utiliser le cyanure de potassium et la triéthanolamine pour « dissimuler » les métaux lourds à la réaction du complexon. C'est l'application de ce principe au dosage des cations alcalino-terreux que nous avons étudiée dans le cas de nos échantillons végétaux, riches en métaux lourds.

II. CONDITIONS D'UTILISATION DU DOSAGE COMPLEXOMÉTRIQUE

La technique courante consiste à doser la somme calcium plus magnésium d'une part, le calcium d'autre part, puis à calculer le magnésium par différence. A opérer ainsi, il y a s'opposant l'avantage de doser directement sur les solutions de minéralisation et l'inconvénient inhérent à toutes les méthodes de dosage par différence.

C'est ainsi que nous avons obtenu de mauvais résultats en appliquant la méthode décrite aux solutions provenant des cendres de feuilles de bana-

niers. Nous avons trouvé à cela deux raisons :

— la perception de la fin de la réaction est très mauvaise.

— le volume de solution titrante obtenu en dosant les deux cations Ca et Mg ne correspond pas au volume de cette même solution dosant Ca ajouté au volume nécessaire pour doser Mg (tableau I.)

Dans ce tableau I, la première rangée donne les volumes en centimètres cubes de la solution de complexon nécessaire à la réaction sur les quantités en microgrammes de calcium portées horizontalement en haut du tableau ; la deuxième rangée donne les volumes expérimentalement obtenus dans les

mêmes conditions en dosant ces quantités de calcium auxquelles ont été ajoutés 1 000 µg de magnésium ; la troisième rangée donne les volumes qui auraient dû être trouvés et qui ont été calculés en ajoutant 3,65 cm³, volume nécessaire au dosage de 1 000 γ de Mg, aux volumes utilisés pour doser les quantités croissantes de calcium. Les différences sont constantes, par défaut, et comprises entre 1,5 et 3 %. Si faibles soient-elles, elles entachent les résultats d'une erreur systématique rendant inexacts à la fois les teneurs en calcium et les teneurs en magnésium.

Dans ces conditions, il nous est apparu raisonnable d'abandonner cette

(1) J. DUMAS : Dosage des cations alcalino-terreux dans les échantillons végétaux, *Fruits*, Vol. 13, n° 4, Avril 1958, p. 161-166.

(2) V. KUHN, *Chimie analytique*, vol. 40, n° 9, p. 323-326.

TABLEAU I

$\frac{\text{Ca}\gamma}{\text{Mg}\gamma}$	0	800	1 200	1 600	2 000	2 400
0	0	2,10	3,15	4,15	5,20	6,35
1 000	3,65	5,60	6,60	7,80	8,70	9,70
Volume théorique.		5,75	6,80	7,80	8,85	10,0

technique et d'étudier les conditions du dosage du magnésium après séparation du calcium, dans le filtrat de l'oxalate tel que nous l'obtenons habituellement.

Dosage du magnésium.

L'obtention quantitative du calcium est aisément réalisable et suffisamment rapide pour qu'il nous ait semblé justifié d'abandonner son dosage direct si le magnésium pouvait être obtenu avec une précision suffisante dans le filtrat.

Ce filtrat est un milieu complexe contenant outre les cations et anions courants dans les végétaux, calcium excepté évidemment, un excès d'anion oxalique, de l'acide lactique, de l'ammoniaque et une goutte de rouge de méthyle ; il est à un pH très voisin de 5. Il est donc indispensable de contrôler quels ions peuvent interférer et dans quelle mesure ils agissent.

Ions interférants.

A. Cations.

Le milieu débarrassé de Ca, on se trouve en présence d'une très forte teneur en potassium, mais on sait que les cations alcalins ne gênent pas à ces concentrations initialement de l'ordre du milligramme par centimètre cube. Restent alors, à ne considérer que les cations, les métaux lourds. Ceux-ci abondent dans les végétaux provenant de sols tropicaux dont la plupart sont à évolution latéritique. C'est ainsi que pour le bananier, ceux dont la teneur est la plus forte sont le fer, le manganèse et l'aluminium présents à des concentrations variant entre 100 et

500 p. p. m. C'est dire qu'on en trouvera entre 50 et 250 μg dans les échantillons de poudre pesant 500 mg. Les autres métaux lourds se trouvent à des concentrations notoirement plus faibles, de l'ordre de 10 à 100 fois, et peuvent donc être négligés. Il restait donc indispensable de mesurer l'action, sur la réaction mise en œuvre, du fer, du manganèse et de l'aluminium.

Dans le tableau II, on trouvera en abscisse les métaux lourds ajoutés,

200 μg , à la solution pure de magnésium, ion présent à deux concentrations comme l'indique l'ordonnée du tableau ; dans les carrés, on a les volumes en centimètres cubes exigés par chaque réaction. Il est aisé de constater que les métaux lourds prennent part à la réaction, mais avec heureusement moins de sensibilité que le magnésium ; cependant, parmi eux, le manganèse intervient plus énergiquement.

Nous avons alors contrôlé l'action du cyanure de potassium et de la triéthanolamine réputés capables de dissimuler ces cations. Les quantités de réactifs utilisées sont celles indiquées par l'auteur : 2 cm³ de CNK à 1 %, 2 cm³ de triéthanolamine au 1/3. Dans le tableau III, on trouvera en abscisse les quantités en microgrammes de métaux lourds utilisés et en ordonnée les deux concentrations de magnésium mises en œuvre pour chacun des trois métaux ; les chiffres dans les carrés sont les volumes en centimètres cubes de la solution titrante de complexe.

TABLEAU II

$\frac{\text{Mg}\gamma}{\text{Métaux lourds}}$	O	Fe	Mn	Al
1 000	3,65	3,75	4,05	3,55
2 000	7,10	7,35	7,95	7,25

TABLEAU III

$\frac{\text{Métaux lourds}}{\text{Mg}\gamma}$		0	50	100	200	300	400
1 000	Fe	3,70		3,70	3,65	3,70	3,65
2 000	Fe	7,05		7,10	7,05	7,10	7,00
1 000	Mn	3,80	3,90	3,95	4,10	4,20	4,35
2 000	Mn	7,30	7,35	7,40	7,60	7,90	8,00
1 000	Al	3,65		3,60	3,60	3,60	3,55
2 000	Al	7,05		6,95	6,95	7,15	7,15

Il apparaît aisément à la lecture de ce tableau que les réactifs proposés dissimulent efficacement le fer et l'aluminium présents dans le milieu et d'une manière beaucoup moins satisfaisante le manganèse. Il en résulte que, pour les teneurs connues en ces trois métaux dans le bananier, le fer et l'aluminium ne peuvent pas gêner ce dosage ; par contre, on ne peut pas tolérer dans la prise d'essai plus de 100 γ de manganèse. Au-delà, pour appliquer cette méthode, des séparations sont indispensables. C'est bien là la conclusion qu'on peut tirer du tableau IV où on constate l'effet simultané des trois métaux présents aux concentrations indiquées pour chacun d'eux.

En fait le seuil trouvé ne sera qu'exceptionnellement atteint, car la prise représente, nous le verrons plus loin, 250 mg de poudre, c'est-à-dire qu'on y trouvera dans les cas les plus défavorables 125 μg de manganèse. En fait, cette teneur ne sera très vraisemblablement pas rencontrée, car les concentrations en métaux dont nous avons fait état sont des concentrations vraies, c'est-à-dire obtenues à partir de fusion alcaline oxydante, respectant l'intégralité du stock de métaux lourds dans les échantillons.

Or l'incinération que nous pratiquons pour le dosage des macro-éléments n'est pas favorable, bien loin de là, à l'obtention quantitative de micro-quantité de métaux lourds : l'intervention de la silice en dissimule une bonne part.

B. Anions.

L'action proprement chimique des anions sur la réaction est nulle, mais ils peuvent intervenir du fait du carac-

TABLEAU IV

Métaux lourds Mg γ	0	100	200	300	400
1 000	3,80	3,90	4,10	4,25	4,70
2 000	7,45	7,50	7,75	7,90	8,05

TABLEAU V

P γ Mg γ	1 000	3 000	5 000	10 000	20 000
1000	3,70	3,75	3,70	3,75	3,75
2 000	7,20	7,15	7,15	7,20	7,20

tère basique élevé de la solution au moment du titrage. Aucun sulfate des cations restants n'étant susceptible de précipiter à de tels pH, il reste à envisager l'effet des anions : phosphorique, présent dans l'échantillon ; lactique et oxalique, ajoutés lors de la précipitation du calcium.

La teneur en P des feuilles de bananier ne dépasse pas 0,5 % dans les échantillons que nous avons analysés ; c'est dire que dans une prise d'essai de 500 mg on trouvera au maximum 2,5 mg de P. Une telle teneur provoquerait inévitablement une précipitation si on amenait à pH 9,5 avec de la soude ; le remplacement de cette base par l'ammoniac et la présence des divers réactifs ajoutés en cours de route évitent toute précipitation quand le milieu contient 20 mg de P. Nous n'avons pas contrôlé si au-delà de cette concen-

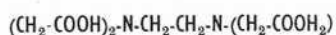
tration un précipité se manifeste. Le tableau V montre bien que P ne gêne en rien la réaction aux teneurs étudiées.

L'anion lactique, destiné à tamponner le milieu, est utilisé en quantité constante dans ces dosages ; nous avons contrôlé que sa présence ne modifie pas le résultat final.

L'anion oxalique, destiné à précipiter le calcium, peut varier quantitativement dans le milieu, puisque des quantités variables de ce cation en laissent plus ou moins en solution après séparation et que la dose de réactif précipitant peut varier, car elle peut être doublée, c'est-à-dire passer de 2 à 4 cm^3 de la solution saturée d'acide oxalique, dès qu'on se trouve en présence de 1 % de calcium. Nous avons donc contrôlé que de 0 à 4 cm^3 de cette solution, le volume de versénate versé ne varie pas.

III. DOSAGE

Rappelons brièvement ce que sont les dosages complexométriques. Ils utilisent un agent « chélateur », dont le plus courant est le sel disodique de l'acide éthylènediamino-tétracétique (p. m. = 372,1) :



qui a la propriété de former avec un métal quelconque un nouveau composé, dissimulant complètement les caractéristiques du métal. En général, on fait écouler par une burette une quantité connue de solution titrée du complexon jusqu'à l'achèvement de la réaction, c'est-à-dire jusqu'à la formation com-

plète du chélate métallique ne laissant plus de métal en solution. On est renseigné sur le terme de la réaction par un indicateur prenant une coloration caractéristique en présence du métal et une teinte différente au moment de sa disparition. L'indicateur le plus couramment utilisé fut la murexide qui

TABLEAU VI

Mg γ \ pH	9	9,5	10	11
800	2,90	2,95	2,90	3,00
1 200	4,30	4,35	4,60	Flou
1 600	5,60	5,75	5,85	Flou

avait l'inconvénient majeur de manquer de sensibilité à l'égard des alcalino-terreux. KAHN l'a remplacé avec bonheur par le vert de naphthol B en mélange avec la phtaléine-complexon.

pH optimum.

La réaction est quantitative à des pH élevés : 10 est le chiffre le plus couramment trouvé dans la littérature à cet égard. Malheureusement la perception de la fin de la réaction n'est pas toujours nette et nous avons recherché une valeur basique mieux adaptée. Le tableau VI donne les volumes de complexon utilisés aux quatre pH utilisés pour trois concentrations de Mg.

On voit qu'un pH très élevé est inutilisable (pH = 11) ; pour des quantités supérieures à 1 mg, le pH = 10 donne un virage malaisément perceptible ; enfin le pH = 9 ne donne pas des volumes proportionnels aux concentrations de Mg mises en œuvres : seul le pH = 9,5 est acceptable à tous égards.

Fin de la réaction.

Nous venons à plusieurs reprises de faire allusion à la difficulté de percevoir la fin de la réaction ; il est bien connu que c'est là un des inconvénients des dosages complexométriques où les teintes n'évoluent que très lentement vers la coloration finale lorsqu'on utilise les solutions de complexon suffisamment diluées pour satisfaire aux exigences des semi-microdosages. Nous avons utilisé un procédé simple permettant de préciser la fin de la réaction à 0,05 cm³ près de la solution 0,01 M de complexon, concentration au-des-

sous de laquelle il n'est pas recommandé de descendre.

Le bécher de titration est posé sur un support faisant écran à une ampoule de 25 W ; ce support est percé d'un trou d'un diamètre très légèrement supérieur à celui du bécher et garni d'un verre dépoli. Lorsque la réaction paraît proche de son terme, on laisse couler goutte à goutte en agitant après chaque goutte et on observe la coloration que prend le liquide « autour de la goutte tombée » ; tant qu'une couleur verte peut être perçue, on poursuit l'addition du complexon en ayant soin d'attendre que l'agitation du liquide se soit apaisée pour ajouter une goutte supplémentaire. Il sera bon de ne pas confondre l'apparition de la teinte verte diluée avec la décoloration apparaissant par simple dilution du liquide autour des gouttes tombant en excès.

Mode opératoire.

Nous utilisons habituellement une solution de 20 cm³ provenant des cendres de 500 mg de poudre hydrolysées par 5 cm³ de ClH N ; la solution obtenue a un pH de 1-1,1.

10 cm³ sont prélevés pour doser le calcium et le magnésium. On ajoute à cette prise 0,5 cm³ d'acide lactique au 1/2 pour tamponner le milieu, puis 2 à 4 cm³ d'une solution d'acide oxalique saturée et une goutte de rouge de méthyle en solution alcoolique à 1 %/100. On porte sur la plaque chauffante puis on ajoute de l'ammoniaque au 1/2 jusqu'à obtention d'une teinte rose avec un fond jaune discret caractéristique de pH 5. (On se réfère à un témoin tamponné à pH 5.) La précipitation

est immédiate et la sédimentation rapide sur la plaque chauffante où les solutions restent au plus 45 mn. Après refroidissement on filtre sur filtre de MAUME-DULAC-BOUAT et le précipité, emprisonné dans la rondelle de papier filtre, est porté au four à incinération, où il subit une calcination à 800° C ; la chaux obtenue est hydrolysée par 5 cm³ de ClH N et cette solution à peu près pure de calcium peut être dosée soit par spectrophotométrie soit par complexométrie. Le filtrat contient le magnésium et les métaux lourds.

Dosage du magnésium.

La solution titrante est une solution 0,01 M du sel disodique de l'acide éthylène-diamino-tétracétique, contenant donc 3,721 g par litre de « versénate » (littérature anglo-saxonne) ; c'est une solution assez stable, d'un pH voisin de 5. Avant chaque série, il est bon de titrer 800 à 1 600 γ de Mg, autant pour contrôler le titre journalier que pour « avoir dans l'œil » le virage. En général, 1 000 γ de Mg exigent 3,65 cm³ de cette solution. Il est évident qu'on pourrait, pour augmenter le volume de complexon utilisé et par là diminuer les erreurs de tirage, augmenter la dilution de la solution titrante ; cette pratique n'est pas recommandable, car la perception de la fin de la réaction serait alors beaucoup trop délicate et en fait difficilement réalisable.

L'indicateur, nous l'avons vu, est un mélange de vert de naphthol B et de phtaléine-complexon ; les solutions étant peu stables, on préfère utiliser le produit pulvérulent ; sa composition exacte est la suivante :

Vert de naphthol B : 75 mg

Phtaléine-complexon : 100 mg

Chlorure d'ammonium, pur PA : 20 g.

Il est bon, pour préparer cet indicateur, de ne pas triturer ses composants au mortier, sauf le chlorure d'ammonium, car beaucoup trop de produit reste adhérent aux parois, même très propres et très sèches, ce qui évidemment modifie la composition du milieu.

On en utilise une petite cuiller d'environ 75 mg pour chaque dosage.

Les réactifs dissimulant les métaux lourds sont :

— Cyanure de potassium à 1 ‰, dont on prend 2 cm³ à chaque dosage.

— Triéthanolamine au 1/3, dont on prend 2 cm³ à chaque dosage.

Dans la pratique on ajoute au filtrat qu'on trouve à pH 5 : 2 cm³ de cyanure de potassium et 2 cm³ de triéthanolamine. Ces additions peuvent être faites sur tous les béchers de la série. Par contre, on ajoute juste avant chaque dosage, 2 cm³ d'ammoniaque concentrée qui amène la solution, à partir de pH 5 et grâce à l'acide lactique, à un pH compris entre 9,5 et 10. Il est préférable de passer en milieu basique au dernier moment pour éviter qu'à la longue des phosphates ne précipitent. On ajoute ensuite l'indicateur, environ 75 mg ; on attend quelques secondes en agitant pour parachever la dissolution : on a alors une solution pourpre qui donnera en fin de réaction une couleur vert brillant. On prendra soin de titrer comme il a déjà été dit en observant l'apparition d'une teinte verte autour de la goutte de versénate tombée dans la solution calme contenue dans le bécher.

Résultats.

I. Nous avons confronté cette méthode avec deux autres :

— la méthode classique du phosphate ammoniaco-magnésien qui donne en général des résultats par excès ;

— la méthode décrite par J. BELEY et G. CUEMJI où après précipitation du calcium les métaux lourds sont séparés par le diéthylthiocarbamate, Mg étant alors titré par diazotation de l'oxine (*Agronomie Tropicale*, janvier 1958, p. 116-119).

Neuf échantillons de riz ont été dosés : tableau VII.

II. Sur cette même série d'échantillons nous avons ajouté des quantités connues de magnésium ; on les trouvera dans la première rangée du tableau VIII exprimées en microgrammes ainsi que la quantité retrouvée dans la deuxième rangée.

III. Nous avons contrôlé notre méthode sur un autre matériel végétal

par rapport à une autre méthode, celle décrite par P. MARTIN-PRÉVEL, basée sur la séparation du calcium et des métaux lourds par le tungstate et le dosage du magnésium par complexométrie en présence de noir Eriochrome T comme indicateur.

IV. Enfin, sur toute une série d'échantillons provenant d'espèces végétales très variées cultivées tant sur des sols tropicaux qu'en France, nous avons juxtaposé nos résultats avec ceux de J. BELEY ; on les trouvera dans le tableau X.

TABLEAU VII

Numéros échantillons	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Phosphate am/mg.	0,50	0,78	0,73	0,87	0,80	0,80	0,87	0,80	0,49
Méthode J. BELEY.....	0,44	0,69	0,66	0,79	0,73	0,76	0,63	0,70	0,58
Complexométrie	0,46	0,70	0,63	0,80	0,76	0,83	0,68	0,78	0,55

TABLEAU VIII

Nos échantillons	1	2	3	4	5	6	7	8	9
γ Mg ajoutés	250	100	200	0	100	0	200	100	400
γ Mg retrouvés	230	120	210	XX	110	XX	210	100	380

TABLEAU IX

Nos échantillons	IV B I	VI B II	106 III	114 IV	151 V	155 VI
Méthode P. M.-P. .	0,18	0,25	0,21	0,44	0,05	0,06
Méthode DUMAS ..	0,17	0,27	0,19	0,42	0,09	0,08

TABLEAU X

Variétés	Ara-chide	Bana-nier	Caféier	Coton-nier	Hévéa	Maïs	Olivier	Pal-mier	Riz
J. BELEY	0,47	0,33	0,35	0,30	0,31	0,30	0,16	0,44	0,11
J. DUMAS	0,53	0,35	0,38	0,33	0,33	0,32	0,19	0,46	0,13

CONCLUSION

La comparaison de ces quatre tableaux montre une concordance très satisfaisante entre nos résultats et ceux des méthodes de J. BELEY et P. MARTIN-PREVEL, toutes deux basées sur des séparations des ions gênants. Si on fait abstraction du tableau X, les différences observées sont tantôt positives, tantôt négatives et on ne peut guère de la sorte incriminer tel défaut particulier à l'égard d'une des méthodes.

Il convient de souligner les écarts importants entre les résultats trouvés pour des échantillons d'ananas 151 V et 155 VI. Il faut très vraisemblablement en rechercher la cause dans les teneurs particulièrement faibles de ces échantillons en magnésium : à de telles concentrations de véritables microméthodes doivent être utilisées lorsqu'on a en vue l'obtention de chiffres exacts.

Enfin le tableau VII montre combien est dangereuse l'utilisation du phosphate ammoniac-magnésien dans l'analyse d'échantillons riches en métaux lourds ; les écarts par excès peuvent être considérables, comme dans le cas de l'échantillon 7.

De la confrontation de ces résultats on peut conclure à la validité de la méthode proposée.

Paris, août 1959.

PLANTEURS

Désherbage :

Canne à sucre **QUINOXONE** lourd
Bananières et ou
Ananas **QUINOFANE**

Insectes :

Charançons **LINDEX**
Fourmis **CYCLOP** (heptachlore)

Maladies :

Cercospora **QUINOLATE 20** huileux
ou
DITHANE-QUINO

LA QUINOLÉINE
43, rue de Liège PARIS (8°)



TOUT L'APPAREILLAGE DE LABORATOIRE

Anciens É^{ts} BREWER

P. HOULIER, succ^r

BALANCES - POIDS - TRÉBUCHETS - ÉTUVES

PECTINOMÈTRES

THERMOS PIQUEURS ET ENREGISTREURS

APPAREILS A pH AU 1/100°

AGITATEURS, DIVERS, etc...

ATELIER DE SOUFFLAGE PYREX

76, bd Saint-Germain — PARIS (5)

Tél. ODÉON 34-04